

Sistemik Skleroderma Hastalarında Periferik Kan T Regulatoruvar Hücreleri ve T Helper 17 Hücrelerinin Değerlendirilmesi

Assessment of Peripheral Blood Regulatory T Cells and T Helper 17 Cells in Patients with Systemic Scleroderma

¹Döndü Üsküdar Cansu, ²Hava Üsküdar Teke, ¹Cengiz Korkmaz

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Özet: Düzenleyici T hücreleri (T-reg), otoantijenlere karşı immün yanıtı baskılayarak otoimmün hastalıkların gelişiminde önleyici rol oynayabilir. Fonksiyonu bozulmuş veya azalmış T-reg ve / veya artmış T-helper (h)17 hücreler otoimmün hastalıkların oluşumundan sorumlu olabilir. T-reg ve sistemik skleroderma arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar sınırlıdır ve çelişkilidir. Amacımız, sistemik sklerodermalı hastalarda T-reg ve Th-17 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan farklı olup olmadığını belirlemek ve hastalık aktivasyonu ile aralarında bir ilişki olup olmadığını ortaya koymaktır. 17 sistemik skleroderma hastası çalışmaya alındı. Klinik ve laboratuvar bulguları, modifiye Rodnan deri skorları, Valentini hastalık aktivasyon indeksleri ayrıntılı bir şekilde değerlendirildi. Eş zamanlı periferik kandan T-reg (CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg) ve Th-17 (IL-17 üreten T hücreleri) hücre düzeyleri çalışıldı. Cinsiyet ve yaş uyumlu sağlıklı 11 kişi kontrol grubu olarak alındı. 17 hastanın 15'i kadın, yaş ortalaması 52.8±9.36 yıl, hastalık süresi ortalama 5.41±4.51 yıl idi. Hastaların hepsinde cilt tutulumu ve Raynaud fenomeni varken özefagus tutulumu 13 (%76.5) hastada akciğer tutulumu ise 14 (%94.1) hastada vardı. Valentini hastalık aktivite indeksi ortalama 3.23±1.53 idi. Sklerodermalı hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında tüm T-reg hücrelerin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde hasta grubunda daha yüksek saptandı. CD4+IL-17 hücre düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında hasta grubunda daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (sırasıyla p<0.0001, p<0.0001, p<0.0001 ve p=0.100). Kesitsel bir çalışmada, sistemik skleroderma hastalarında artmış T-reg hücrelerinin anlamını açıklamak zordur. Bu durum immünsupresif tedavi ile hücrelerin modifikasyonuna bağlı olabilir. Tedaviden önce ve sonra T-reg hücrelerini değerlendirmek daha anlamlı olabilir.

Anahtar kelimeler: skleroderma, T-regulatoruvar hücreler, T-helper 17 hücreler, hastalık aktivasyonu

Üsküdar Cansu Üsküdar Teke H, Korkmaz C. (2018). Sistemik Skleroderma Hastalarında Periferik Kan T Regulatoruvar Hücreleri Ve T Helper 17 Hücrelerinin Değerlendirilmesi, *Osmangazi Tıp Dergisi* 40 (1):28-33 **Doi:** 10.20515/otd.395894

Abstract: Regulatory T-cells (T-reg) may play an inhibitory role in the development of autoimmune diseases by suppressing the immune response to autoantigens. Impaired or decreased T-reg and/or increased T helper (h)-17 cells may be responsible for the development of autoimmune diseases. However, studies about the association of T-reg and systemic scleroderma are limited and conflicting. Our aim is to determine whether T-reg and Th-17 levels differed between healthy controls and in patients with systemic scleroderma and whether there is a relationship with disease activation. 17 patients with systemic scleroderma were included in the study. Clinical and laboratory parameters, modified Rodnan skin scores, Valentini disease activity index were evaluated in detail. Concurrent peripheral blood T-reg's (CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg) and Th-17 (IL-17 producing T cells) cells levels were studied. Age and sex matched 11 subjects were included as healthy control in this study. Fifteen of seventeen patients were female, median age was 52.8±9.36 years, median disease duration was 5.41±4.51 years. While skin involvement and Raynaud's phenomenon were determined in all of the patients, esophageal involvement was determined in 13 of the patients (76.5%), and lung involvement in 14 (94.1%) patients. Median Valentini disease activity index was 3.23±1.53. In comparison of systemic scleroderma and healthy control, all the T-reg's cell levels were significantly higher in systemic scleroderma group than healthy control (p<0.0001, p<0.0001 and p<0.0001, respectively). The levels of CD4+IL-17 cells in systemic scleroderma group were higher when compared to healthy control, but it was not statistically significantly (p=0.100). In a cross-sectional study, it is rather difficult to explained the meaning of increased T-reg cell in systemic scleroderma patients. These results may be due to modification of the cells by immunosuppressive treatment. It might be more meaningful to evaluate T-reg cell before and after the treatment.

Keywords: scleroderma, T-regulatory cells, T-helper 17 cells, disease activation

Uskudar Cansu D, Uskudar Teke H, Korkmaz C. (2018). Assessment Of Peripheral Blood Regulatory T Cells And T Helper 17 Cells In Patients With Systemic Scleroderma, *Osmangazi Journal of Medicine* 40 (1):28-33 **Doi:** 10.20515/otd.395894

1. Giriş

T-regulatuvar hücreleri (T-reg) esas olarak CD4+T hücrelerin bir alt grubudur ve bu popülasyonun %5-10'unu oluşturur. T-reg hücreleri bir transkripsiyon faktörü olan FOXP3 ekspresyonu sergileyen heterojen bir grup hücredir. T-reg'ler, CD4+CD25+FOXP3+ olarak timustan köken alarak gelişirler ve vücutta gelişen otoantijenlere karşı oluşacak immün yanıtı baskılayarak, otoimmün hastalıkları engellemektedirler. Otoimmün hastalıkların patogenezinde ve devamında bozulmuş veya azalmış T-reg'ler ve artmış T helper (h)-17'ler sorumludur. Sistemik skleroderma hastalarında T-reg ve Th-17 hücre düzeyleri arasındaki dengesizlikle ilgili literatürde çok fazla çalışma yoktur (1-7). Çalışmaların bazıları sadece Th-17 veya T-reg düzeylerini değerlendirmişken az sayıda çalışma her iki hücre veya sitokin düzeylerini değerlendirmiştir. Çalışmaların bazılarında periferik T-reg hücreleri artmış olsa da bazılarında normal veya azalmıştır veya sayıdan bağımsız olarak fonksiyonları azalmıştır (1-6). Th-17 hücre düzeyleri ise çalışmaların çoğunda sağlıklı kontrol grubuna göre hasta grubunda artmış olarak saptanmış ve birkaç çalışmada da hastalık aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur (1,3,5,7). Bu çalışma ile amacımız, sistemik skleroderma hastalarında T-reg ve Th-17 hücre düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan farklı olup olmadığını belirlemek ve hastalık aktivasyonu ile aralarında bir ilişki olup olmadığını ortaya koyarak verilerimizi literatür verileri ile kıyaslamaktır.

2. Yöntem ve Gereç

Hasta seçimi

2013 Amerika Romatoloji Derneği (ACR)/Avrupa Romatizma ile Savaş Derneği (EULAR) sistemik skleroderma tanı kriterlerini (8) karşılayan, romatoloji bölümünde takipli 17 sistemik skleroderma hastası çalışmaya alındı. Hastaların ortalama takip süresi, hastalık süreleri, sistemik skleroderma alt grubu, hastalık başlangıç bulgusu, organ ve sistem tutulumları, ayrıntılı hemogram parametreleri (hemoglobin düzeyi,

beyaz küre sayısı, absolü nötrofil sayısı, absolü lenfosit sayısı, trombosit sayısı), hastalık aktivasyonu açısından eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), modifiye Rodnan deri skorları, Valentini hastalık aktivasyon indeksleri (9), otoantikolar, solunum fonksiyon testleri (SFT), akciğer diffüzyon kapasitesi (DLCO), akciğer tutulumuna ait bilgisayarlı tomografi bulguları, ekokardiyografide değerlendirilen pulmoner arteriyel hipertansiyon varlığı, özefagus tutulumu olup olmadığı dosya bilgilerinden ve dijital kayıt sisteminden belirlendi. Medikal tedavileri ayrıntılı olarak değerlendirildi. Aktif enfeksiyon bulgusu olan, tedavisi son 1 ay içerisinde değiştirilen ve çalışmaya dahil olmak istemeyen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Cinsiyet ve yaş uyumlu sağlıklı 11 kişi ise kontrol grubu olarak alındı.

T-reg ve Th-17 düzeylerinin çalışma prensibi

Eş zamanlı periferik kandan T-reg (CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg) ve Th-17 hücre düzeyleri (IL17 üreten T hücreleri) çalışıldı.

T-reg analizi

T-reg analizi için K3EDTA'lı tüpe kan alındı. CD4PerCp, CD25FITC yüzey antijenleri kondu. Üzerine 100 µl 1x10⁶ hücreye ayarlanmış kan kondu. 15-20 dakika oda ısısında inkübe edildi. 2 cc eritrosit lysing solusyonu ile 10 dakika oda ısısında bekletildi. 5 dakika 1800 RPM de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Soğuk phosphate buffer saline (PBS) ilave edilerek yıkandı. Pellet vortekslendi ve 1ml taze hazırlanmış fiksasyon/ permeabilizasyon solusyonu konup vortekslendi. 4°C'de 30-60 dakika karanlıkta bekletildi. 2 ml 1X permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkandı ve süpernatant alındı. Dipteki pelletin üzerine 20 µl FOXP3-PE kondu. 4°C'de en az 30 dakika karanlıkta bekletildi. 2 ml permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkayıp süpernatant atıldı. PBS ile resuspanse edilerek akım sitometri cihazında 25000-30000 hücre saydırıldı. Analizler yalnızca CD4+ helper T hücreler kapı alınarak

ve kan alınmasını takip eden 24 saat içinde yapıldı

Th-17 analizi

IL-17 için ise heparinli enjektöre kan alındı. 0.5 cc kan ile 0.5 cc RPMI karıştırıldı. Üzerine 25 µl PMA, 20 µl kalsiyum ionomycine, 10 µl brefeldin konuldu. %5 CO₂ 37°C'de 4-6 saat bekletildi. Falcon tüpe 100 µl aktive kan konuldu. 2 ml pharmlyse ilave edilip vortekslendi. 10 dakika karanlıkta bekletildi. 1800 RPM'de 5 dakika santrifüj edilip supernatan atıldı. 2 ml Dulbecco konulup 1800 RPM'de 5 dakika yıkandı. Yüzey antijenleri (CD3,CD4) bağlandı. 15 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. Tekrar Dulbecco ile 1800 RPM'de 5 dakika yıkandı. Supernatan atılıp, pellete 500 µl cytefix/cytoperm koyulup vortekslendi. Karanlık oda ısısında 20 dakika bekletildi. 5 dakika 1800 RPM'de santrifüj edilerek supernatan atıldı. 2 ml dilüe perwash solusyonu koyulup 10 dakika bekletildi. 5 dakika 1800 RPM'de santrifüj edildi, supernatan atıldı. İntrasellüler antijenin (IL-17) 30 dakika bağlanması sağlandı. Bir kez daha yıkandı. Pellete PBS eklenip vortekslendi ve son olarak akım sitometri cihazında analiz edildi.

Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 02.11.2016 tarih ve 80558721/-88 sayılı kararı ile onaylandı.

İstatistiksel analiz

Çalışmaya alınan değişkenlerin incelenmesinde sürekli veriler ortalama±standart sapma (SD), kategorik veriler ise sıklık ve yüzde olarak verildi. Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmesi için IBM, SPSS for Windows sürüm 21.0 kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, p<0.05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kategorik verilerin analizinde (çapraz tablolar) Pearson Kikare, Yate's

Kikare ve Pearson Kesin Kikare analizleri kullanıldı. Değişkenler arası ilişkinin (korelasyon) yönü ve büyüklüğünün belirlenmesi normal dağılım gösteren değişkenler için Pearson Korelasyon katsayıları, normal dağılıma uygunluk göstermeyen değişkenler için ise Spearman korelasyon katsayıları hesaplandı.

3. Sonuçlar

Hasta özellikleri ve klinik bulgular

17 hastanın 15'i kadın, yaş ortalaması 52.8±9.36 yıl, hastalık süresi ortalama 5.41±4.51 yıl idi. Hastaların hepsinde cilt tutulumu ve Raynaud fenomeni varken özefagus tutulumu 13 (%76.5) hastada, dijital ülser 2 (%11.7) hastada, akciğer tutulumu ise 14 (%94.1) hastada vardı. Çalışma sırasında ortalama ESH 31.29 ±12.7 mm/saat, CRP 0.573±0.474 mg/dl, Valentini hastalık aktivite indeksi ortalama 3.23±1.53 idi. Çalışma sırasında hastaların 8'i (%47.9) steroid, 5'i (%29.4) hidroklorokin, 6'sı azatioprine (%35.3), 2'si (%11.8) siklofosamid ve 2'si (%11.8) metoteksat kullanıyordu Kümülatif olarak hastaların 15'i (%88.2) nifedipin, 14'ü (%82.4) hidroklorokin, 14'ü (%82.4) steroid, 13'ü ise immunopresif ilaç (azatioprin n=10 (%58.6), mikofenolat mofetil n=1 (%5.9), siklofosamid n=7 (%41.2) almıştı (Hastaların demografik ve klinik özellikleri, laboratuvar bulguları ve tedavileri ayrıntılı olarak Tablo 1'de verilmiştir).

T-reg ve Th-17 düzeyleri

CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg ve CD4+CD25+FOXP3+T-reg skleroderma grubunda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek saptandı, ancak CD4+IL-17 hücre düzeyleri hasta grubunda daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (sırasıyla p<0.0001, p<0.0001, p<0.0001 ve p=0.100) (Tablo 2).

Tablo1.*Skleroderma hastalarının klinik özellikleri, laboratuvar sonuçları ve medikal tedavileri*

	Skleroderma hastaları
N	17
Kadın/Erkek	15/2
Yaş±SD, yıl	52.8±9.36
Tanı yaşı±SD, yıl	47.4±4.51
Hastalık süresi±SD, yıl	5.41±4.51 (1-18)
Organ tutulumları	
Cilt tutulumu, n, (%)	17 (100)
Sınırlı skleroderma/diffüz skleroderma, n, (%)	14/3 (82.4/17.6)
Özefagus tutulumu, n, (%)	13 (76.5)
Kalp tutulumu, n, (%)	1 (5)
Raynaud fenomeni, n, (%)	17 (100)
Dijital ülser, n, (%)	2 (11.7)
Pulmoner HT	1 (5)
Akciğer tutulumu, n, (%)	14 (94.1)
Fibrozis, n, (%)	6 (35.3)
Buzlu cam, n, (%)	11 (64.7)
Solunum fonksiyon testleri	
FVC±SD	81.5±18.3
FEV1±SD	82.3±20.7
FEV1/FVC±SD	104±12.7
DLCO±SD	65.7±17.8
Hemoglobin, g/dl	12.3±1.2 (9.4-14.6)
Lökosit sayısı, /mm³	6570±2137 (3600-10200)
Absolü nötrofil sayısı, /mm³	4588±1682 (2200-7900)
Absolü lenfosit sayısı, /mm³	1282±516 (600-2500)
Trombosit sayısı, /mm³	243529±70221 (136000-370000)
ESH±SD, mm/saat	31.29 ±12.7 (5-51)
CRP±SD, mg/dl	0.573±0.474 (0.320-2.30)
Modifiye Rodnan deri skoru	17.5±5.6
Valentini hastalık aktivite indeksi, ortalama±SD	3.23±1.53 (1.5-6)
ANA pozitifliği, n, (%)	17 (100)
Anti-sentromer pozitifliği, n, (%)	3 (17.6)
Anti-Scl 70 pozitifliği, n, (%)	7 (41.1)
Kümülatif medikal tedavi	
Hidroksiklorokin kullanımı, n, (%)	11 (64.7)
Steroid kullanımı, n, (%)	14 (82.4)
İmmüsupresif kullanımı, n, (%)	13 (76.5)
Azatioprine, n, (%)	10 (58.6)
Mikofenolat mofetil, n, (%)	1 (5.9)
Siklofosfamid, n, (%)	7 (41.2)
Ritüksimab, n, (%)	2 (11.8)
Nifedipin, n, (%)	15 (88.2)
Asetil salisilik asit, n, (%)	15 (88.2)
İlioprost, n, (%)	2 (11.8)
Mevcut aktif tedavi	
Steroid	8 (47.9)
Hidroksiklorokin	5 (29.4)
Azatioprine	6 (35.3)
Siklofosfamid	2 (11.8)
Metotreksat	2 (11.8)

SD; standart sapma; ESH;eritrosit sedimentasyon hızı, CRP;c-reaktif protein, FVC; zorlu vital kapasite, FEV; zorlu ekspiratuvar volum, DLCO;karbonmonoksit diffüzyon testi

Tablo 2.

Skleroderma hastalarında CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ düzeylerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılması

	Skleroderma	Sağlıklı kontrol	p değeri
N	17	11	
CD4+CD25+ Treg %, ortalama±SD	6.77±1.97 (3.19-9.43)	4.0±1.44 (2.12-6.15)	<0.0001
CD4+FOXP3+ Treg %, ortalama±SD	7.04±2.32 (1.59±11.76)	2.63±0.957 (1.54-4.63)	<0.0001
CD4+CD25+FOXP3+Treg%, ortalama±SD	2.92±1.06 (0.31±4.55)	1.26±0.6 (0.71-2.64)	<0.0001
CD4+IL-17+ %, ortalama±SD	2.66±1.58 (0.64-5.47)	1.56±0.44 (1.18-2.63)	0.100

Korelasyon analizi sonuçları

Hastalık aktivasyon ölçütlerinden ESH, CRP ve Valentini hastalık aktivasyon indeksleri ile CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ düzeyleri arasındaki korelasyon analizinde ise CD4+IL-17+ hücre düzeyi ile CRP arasında anlamlı pozitif korelasyon varken ($r=0.613$, $p=0.009$), CD4+CD25+T-reg ile steroid dozu arasında negatif korelasyon ($r=-0.513$, $p=0.035$), CD4+CD25+T-reg ile trombosit düzeyi arasında negatif korelasyon ($r=-0.560$, $p=0.019$) ve CD4+CD25+FOXP3+T-reg ile trombosit düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0.500$, $p=0.041$).

4. Tartışma

Th-17 ve T-reg hücrelerin sistemik sklerodermanın oluşumunda ve hastalığın seyrinde rolleri olduğu düşünülmektedir. Literatürde sistemik sklerodermada T-reg çalışmalarının sayısı azdır ve sonuçlar çelişkilidir. Genel olarak T-reg'lerin sayısının anormalliğinden ziyade disfonksiyonu nedeniyle immun sisteme etkisi olduğuna inanılmaktadır. Literatürde sklerodermada T-reg çalışmaları az sayıda olmakla birlikte hem T-reg hem Th-17'yi birlikte değerlendiren çalışma sayısı daha da azdır. Naif sklerodermalı hastalarda sağlıklılara göre CD4+CD25+FOXP3+T-reg düzeyleri artmış olarak saptanmıştır (1). Klein ve arkadaşlarının 25 sistemik sklerodermalı ve 29 sağlıklı kontrolü içeren çalışmasında ise iki grup arasında CD4+CD25+FOXP3+ düzeyleri açısından fark bulunmamıştır (2). Buna

karşılık Fei ve arkadaşları ise sklerodermalı hasta grubunda CD4+CD25+FOXP3+ düzeylerini sağlıklılardan daha düşük saptamışlardır (3). Bunun yanında hastalık aktivasyonu ile T-reg düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran 11 skleroderma hastasını içeren başka bir çalışmada, Valentini hastalık aktivasyon indeksi ve Medgser hastalık şiddet skalası arasında anlamlı korelasyon bulunmuşken, sağlıklılar ile hasta grubu arasında CD4+CD25+T-reg hücre düzeyleri açısından fark saptanmamıştır (4). Başka bir çalışmada diffüz ve aktif kutanöz sistemik sklerodermalı hastalarda T-reg'lerin supresif etkisinin azaldığı ve Th-17'nin arttığı saptanmıştır (5). Hem T-reg hem de Th-17 periferik kan düzeyleri ile hastalığın klinik bulguları arasında ilişki olup olmadığını araştıran 53 hasta ve 27 sağlıklı bireyin değerlendirildiği çalışmada ise Th-17 düzeyleri sağlıklı popülasyondan daha yüksek saptanmış (%8.74 vs %4.41, $p<0.001$) ve Th-17 ile hastalık süresi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Yine T-reg düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan daha yüksek saptanmıştır (%3.04 vs %2.24, $p=0.018$). Bu çalışmada yüksek rezolusyonlu akciğer tomografisinde intertisyel akciğer hastalığı skoru yüksek olanlarda T-reg düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (6). Yang ve ark. diğer çalışmalardan farklı olarak hem periferik kanda hem de hastaların cilt biyopsilerinde Th-17 ve T-reg düzeylerini çalışmışlardır. 45 hasta ve 24 sağlıklı kontrolü periferik kanında sitokin ve hücre düzeyleri ile 13 hastanın cilt biyopsisinde ise kollojen üretimi ve fibroblast büyümesini değerlendirmişlerdir. Erken

sklerodermalı hastalarda IL-17 ve FOXP3 içeren hücre infiltrasyonu saptamışken, aktif sklerodermalı hastaların periferik kanında Th-17 düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Ancak T-reg düzeylerinde farklılık saptamamışlardır (7). Yeni yapılan başka bir çalışmada ise akciğer fibrozisi olan, diffüz sklerodermalı hastalarda T-reg düzeyleri daha yüksek bulunmuş ve FOXP3 gen ekspresyonu da aktif hasta grubunda daha fazla saptanmıştır (8). Literatürde, farklı T-reg alt grupları da çalışılmıştır. Negrini ve arkadaşları sistemik skleroderma hastalarında CD8+T-reg lenfositlerinin in vitro olarak üretiminin değişebileceğini, bu hücrelerin anormal CD127 aşırı ekspresyonu ve azalmış CD39 ekspresyonuyla karakterize baskılayıcı aktivitesinin bozulduğunu göstermişlerdir (9). Biz de çalışmamızda hem T-reg hem de Th-17 düzeylerini değerlendirdik. Hasta grubunda sağlıklılara göre tüm T-reg düzeylerini daha yüksek saptadık. Bu sonuç hastaların tedavi altında olmasından da kaynaklanmış olabilir. İstatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da Th-17 düzeyini Fenglio ve arkadaşlarının çalışması gibi skleroderma grubunda daha yüksek

saptadık (5). Bunun yanında korelasyon analizinde hastalık aktivasyon göstergelerinden Valentini indeksi ile korelasyon saptayamasak da inflamasyon göstergelerinden CRP ile CD4+IL17 düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptadık ve CD4+CD25+T-reg ile steroid dozu arasında negatif korelasyon saptadık. Beklendiği üzere kullanılan steroid dozu arttıkça T-reg düzeyinin azaldığını gördük.

5. Sonuç

Çalışmamızda sistemik sklerodermalı bütün hastalarımız tedavi altında olduğundan T-reg hücreleri uyarılmış olabilir ve kontrol grubundan daha yüksek düzeyler saptanmış olabilir. Hastalarımızın çoğu aktif olduğundan Th-17 düzeyleri de beklediği üzere sağlıklı gruptan daha yüksek saptanmıştır. Tedavinin de bu sonuçlar üzerinde etkisi olup olmadığını gösterebilmek için immunsupresif naif hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası, aktivasyon ve remisyon dönemlerinde hasta sayılarının fazla olduğu benzer bir çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Liu X, Gao N, Li M et al. Elevated levels of CD4(+)CD25(+)FoxP3(+) T cells in systemic sclerosis patients contribute to the secretion of IL-17 and immunosuppression dysfunction. *PLoS One*. 2013;8:e64531.
2. Klein S, Kretz CC, Ruland V et al. A. Reduction of regulatory T cells in skin lesions but not in peripheral blood of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1475-81.
3. Cordiali-Fei P, Mussi A, D'Agosto G et al. Assessment of T regulatory cells and expanded profiling of autoantibodies may offer novel biomarkers for the clinical management of systemic sclerosis and undifferentiated connective tissue disease. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:390563.
4. Slobodin G, Ahmad MS, Rosner I et al. Regulatory T cells (CD4+) CD25 (bright) FoxP3(+) expansion in systemic sclerosis correlates with disease activity and severity. *Cell Immunol*. 2010;261:77-80.
5. Fenoglio D, Battaglia F, Parodi A et al. Alteration of Th17 and Treg cell subpopulations co-exist in patients affected with systemic sclerosis. *Clin Immunol*. 2011;139:249-57.
6. Jiang N, Li M, Zeng X. Correlation of Th17 cells and CD4+CD25+ regulatory T cells with clinical parameters in patients with systemic sclerosis. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127:3557-61.
7. Yang X, Yang J, Xing X, Wan L, Li M. Increased frequency of Th17 cells in systemic sclerosis is related to disease activity and collagen overproduction. *Arthritis Res Ther*. 2014;16:R4.
8. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2013;65:2737-47.
9. Valentini G, Silman AJ, Veale D. Assessment of disease activity. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21:S39-41.
10. Ugor E, Simon D1, Almanzar G, Pap R, Najbauer J, Németh P, Balogh P, Prelog M, Czifjók L, Berki T. Increased proportions of functionally impaired regulatory T cell subsets in systemic sclerosis. *Clin Immunol*. 2017;184:54-62.
11. Negrini S, Fenoglio D, Parodi A, Kalli F, Battaglia F, Nasi G, Curto M, Tardito S, Ferrera F, Filaci G. Phenotypic Alterations Involved in CD8+ Treg Impairment in Systemic Sclerosis. *Front Immunol*. 2017;8:18.